

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**



**DIAGNÓSTICO DE *Brucella* sp. EN REBAÑO OVINO,
MEDIANTE LA PRUEBA SEROLÓGICA CARD TEST,
ESCUELA NACIONAL CENTRAL DE AGRICULTURA,
BÁRCENA VILLA NUEVA, JULIO 2019.**

MARÍA JOSÉ MOREIRA VIDES

Médica Veterinaria

GUATEMALA, MARZO DE 2020

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**



**DIAGNÓSTICO DE *Brucella* sp. EN REBAÑO OVINO, MEDIANTE
LA PRUEBA SEROLÓGICA CARD TEST, ESCUELA NACIONAL
CENTRAL DE AGRICULTURA, BÁRCENA VILLA NUEVA, JULIO
2019.**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

**PRESENTADO A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD**

POR

MARÍA JOSÉ MOREIRA VIDES

Al conferírsele el título profesional de

Médica Veterinaria

En el grado de licenciado

GUATEMALA, MARZO DE 2020

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
JUNTA DIRECTIVA

| | |
|-------------|---|
| DECANO: | M.A Gustavo Enrique Taracena Gil |
| SECRETARIO: | Dr. Hugo René Pérez Noriega |
| VOCAL I: | M. Sc. Juan José Prem González |
| VOCAL II: | Lic. Zoot. Miguel Ángel Rodenas Argueta |
| VOCAL III: | Lic. Zoot. Alex Rafael Salazar Melgar |
| VOCAL IV: | Br. Luis Gerardo López Morales |
| VOCAL V: | Br. María José Solares Herrera |

ASESORES

M.A. LUDWIG ESTUARDO FIGUEROA HERNÁNDEZ

M.A. JAIME ROLANDO MÉNDEZ SOSA

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento con lo establecido por reglamentos y normas de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración el trabajo de graduación titulado:

DIAGNÓSTICO DE *Brucella* sp. EN REBAÑO OVINO, MEDIANTE LA PRUEBA SEROLÓGICA CARD TEST, ESCUELA NACIONAL CENTRAL DE AGRICULTURA, BÁRCENA VILLA NUEVA, JULIO 2019.

Que fuera aprobado por la Honorable Junta Directiva de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Como requisito previo a optar al título profesional de:

MÉDICA VETERINARIA

ACTO QUE DEDICO

A DIOS:

Por nunca fallarme, por poner en mi camino a las personas correctas, por acompañarme en cada etapa de mi vida, por bendecirme de una manera indescriptible y por demostrarme que todo es posible teniendo fe. ¡Gracias por tanto amor! No tengo palabras para agradecer tanto.

A MIS ABUELITOS:

Rafael y Ofelia, mis viejitos. Que con su amor y dedicación formaron la base de todo lo que ahora soy. Representan todos y cada uno de mis triunfos y esfuerzos. Lo son todo para mí. Gracias por su infinito amor e incondicionalidad. Les debo todo lo que soy.

A MIS PADRES:

Luis y Blancky, que con su ejemplo y valentía me enseñan que siempre habrá un mañana. Que siempre se puede volver a comenzar y que hay que trabajar, sin parar hasta alcanzar nuestra mejor versión. ¡Son un gran ejemplo! Gracias por regalarme la vida, el buen ejemplo y este momento. Gracias infinitas pá por ser un excelente padre y por jamás tirar la toalla, estás muy lejos de alcanzar.

A MIS HERMANOS:

Jose, por ser un gran mentor. Por demostrarme que ningún sueño es muy grande, que cualquier cosa es Posible con buena actitud, gracias por todas tus lecciones, sos un hermano ejemplar. Karla y Luichi, gracias por ser motivación diaria y transparencia pura, por mantenerme lleno de amor el corazón. ¡Nunca paren de soñar!

A MIS TÍOS:

Douglas y Zoily, por quererme como una hija más, por su amor e incondicionalidad. Por todas las palabras de aliento, los desvelos y sabios consejos. Son parte importante de este logro. Gracias por toda su dedicación, confianza y paciencia. Me llenan de fortaleza a diario.

A MIS TÍAS:

Moni, Mary, Mimi gracias por siempre motivarme, por llenarme de tanto amor y confianza. Por ser parte de cada etapa de mi vida y por siempre hacerme sentir especial, aprecio infinitamente su amistad.

A MIS PRIMOS:

DD, Sofía y Quique, por mantenerme siempre de pie, por su aprecio, por su motivación y cariño incondicional. Wicho, Isa gracias por tenerme en alto siempre, por su amor, por su apoyo. Melan, Yayo, Edy, Mateo, Marcos, Juanpa, Manolín y Nando por ser fuente de inspiración y admiración. Gracias por su hermandad y amor infinito.

A MI FAMILIA:

Rosita, por mostrarme que el amor es paciente y honesto. Gracias por todas las palabras de afecto y motivación, por formar parte de este momento y ser siempre fuente de luz. Tere y Pupa, gracias por su cariño, su apoyo y por ser parte de este momento. Don Man, gracias por siempre estar al rescate y por tanto cariño. Trutru, gracias por tu cariño y apoyo.

A MIS CATEDRÁTICOS:

Por retar siempre mi capacidad. Gracias por su dedicación y afecto. Por compartir todos sus conocimientos con pasión. Agradecimiento especial a: Mario Llerena, Ludwig Figueroa, Douglas Ruano, Jaime Méndez, Juan José Chávez, Chejo Veliz, Jorge Orellana, Carlos Alfaro, Manuel Rodríguez, Alejandro Hun y Jazzel Zea.

MIS ASESORES:

Dr. Figueroa y Dr. Méndez, por toda su dedicación y paciencia. Por sus aportes, ayuda y contribución en este trabajo de graduación.

A MIS AMIGOS:

A Jinly y Astrid, por su apoyo incondicional, gracias por todas las noches de lágrimas, desvelos y estudio infinito, por la motivación y el empeño en jalarnos una a la otra durante toda la carrera, por todo su cariño. Karen, Vere, Martín, Frida, Gaby y Stephanie gracias por su amistad verdadera, por todas las palabras de motivación, por siempre acompañarme y formar parte de este momento.

A MIS MASCOTAS:

Bebé, Fifi, Parches, Capitán y José quienes con su infinita luz iluminan diariamente mi vida. Gracias por enseñarme que existe el amor real, la nobleza y la lealtad. Por llegar a mi vida y ser un soporte fundamental en ella.

AGRADECIMIENTOS

A DIOS:

Gracias por regalarme la vida, por acompañarme y guiarme correctamente en cada decisión tomada. Te agradezco por ser fuente de inspiración diaria, por la oportunidad de amar y dedicarme a los animales. Gracias por permitirme culminar esta etapa de mi vida.

A LA UNIVERSIDAD:

Gracias por acogerme durante todos estos años, por ser mi segundo hogar, por abrirme las puertas al futuro y permitirme estudiar con pasión esta profesión.

A LA FMVZ:

Por regalarme todos los momentos de alegría, angustia e incertidumbre durante la carrera. Por compartir las experiencias y conocimientos nuevos.

.

A MIS PADRES:

Gracias por regalarme la oportunidad de estudiar y crecer profesionalmente. Por impulsar y motivar mi pasión por los animales. Por formar parte de este logro.

A MIS ABUELITOS:

Gracias por su infinito amor, agradezco su dedicación y confianza. Gracias por compartir este momento conmigo, por formarme como persona, por educarme y enseñarme todos los valores necesarios para tener una vida plena.

A MI FAMILIA:

Por estar en cada momento de mi vida. Gracias por enseñarme lo que es el amor y la felicidad plena, por todas las risas, por todos los consuelos. Gracias por su incondicionalidad y afecto verdadero. A todos ustedes les debo lo que soy.

A MIS CATEDRATICOS:

Por compartir sus conocimientos y experiencias. Gracias por la paciencia, por mostrar mi capacidad. Por expandir mi mente con conocimientos nuevos.

A MIS AMIGOS:

Por siempre motivarme con palabras de aliento y por tanta paciencia. Gracias por acompañarme en mi formación profesional y ser parte de este momento.

A MIS ASESORES:

Ludwig y Jaime, gracias por su paciencia, por tomarse el tiempo de leer y corregir cada paso de este trabajo. Gracias por la motivación y el aprecio.

A:

La Escuela Nacional Central de Agricultura, por abrirme las puertas para llevar a cabo este trabajo.

ÍNDICE

| | | |
|------|---|----|
| I. | INTRODUCCIÓN | 1 |
| II. | OBJETIVOS | 3 |
| | 2.1 General | 3 |
| | 2.2 Específico | 3 |
| III. | REVISIÓN DE LITERATURA..... | 4 |
| | 3.1 Historia:..... | 4 |
| | 3.2 Etiología: | 5 |
| | 3.3 Características descriptivas: | 6 |
| | 3.4 Sinónimos: | 7 |
| | 3.5 Distribución geográfica:..... | 7 |
| | 3.6 Especies susceptibles:..... | 8 |
| | 3.7 Reservorios: | 8 |
| | 3.8 Huésped y parásito: | 8 |
| | 3.9 Transmisión: | 10 |
| | 3.10 Enfermedad en los animales:..... | 10 |
| | 3.11 Enfermedad en los humanos: | 11 |
| | 3.12 Lesiones post- mortem:..... | 13 |
| | 3.13 Diagnóstico: | 14 |
| IV. | MATERIALES Y MÉTODOS | 18 |
| | 4.1 Materiales | 18 |
| | 4.1.1 Recursos humanos..... | 18 |

| | |
|--------------------------------------|----|
| 4.1.2 Recursos biológicos | 18 |
| 4.1.3 Recursos de campo..... | 18 |
| 4.1.4 Recursos de laboratorio | 19 |
| 4.1.5 Centros de referencia | 20 |
| 4.2 Metodología | 20 |
| 4.2.1 Área de estudio | 20 |
| 4.2.3 Diseño del estudio | 22 |
| 4.2.4 Población del estudio | 22 |
| 4.2.5 Procedimiento de campo | 23 |
| 4.2.6 Análisis de laboratorio | 24 |
| 4.2.7 Análisis estadístico | 24 |
| V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 25 |
| VI. CONCLUSIÓN | 26 |
| VII. RECOMENDACIONES | 27 |
| VIII. RESUMEN | 28 |
| SUMMARY | 29 |
| IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 30 |
| X. ANEXOS | 33 |

I. INTRODUCCIÓN

La Brucelosis es una enfermedad muy contagiosa transmitida por diversas especies del género *Brucella*. Es una de las principales zoonosis en nuestro país, por su rápida diseminación, pérdidas económicas y riesgo de contagio al humano. El control y la erradicación han exigido muchos esfuerzos pues, aunque no existe en algunas regiones del mundo, la mayoría de las regiones, incluyendo América, no está libre de esta peligrosa enfermedad. El empleo difundido de la vacunación en las primeras etapas de las campañas de lucha contra la enfermedad ha significado un gran avance para conseguir su erradicación. Las principales vías de infección en el humano son la ingestión, contacto directo y a menudo por enfermedad ocupacional al haber inoculación accidental por medio de productos animales contaminados, los cuales poseen gran cantidad de bacterias.

Esta enfermedad es causada por el agente *Brucella* sp. una bacteria gram negativa intracelular facultativa, que afecta a varias especies de animales, transmitiéndose a través de la leche, secreciones vaginales después de haberse producido el aborto.

Las cabras y los ovinos son los hospedadores clásicos y naturales de *B. melitensis*. Desde algunos puntos de vista *B. melitensis* de pequeñas especies, es similar a *B. abortus* del ganado bovino. La principal sintomatología en rumiantes es el aborto y los mortinatos. Normalmente tienen lugar en el último tercio de la gestación.

La ENCA cuenta con una producción ovina para distintas finalidades. Sin embargo, no poseen ningún plan profiláctico para prevenir patologías. Estos animales pasan gran parte del día libres en el área. Lo que se convierte como un posible foco de infección y un riesgo para la población animal. El propósito del estudio radica en contribuir a la investigación de la enfermedad en la ENCA.

II. OBJETIVOS

2.1 General

- Contribuir a estudio de Brucelosis en ovinos.

2.2 Específico

- Determinar la presencia de *Brucella* sp. en hembras del rebaño ovino perteneciente a la Escuela Nacional Central de Agricultura.

III. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1 Historia:

La brucelosis es una enfermedad causada por una bacteria del género *Brucella* que afecta a muchas especies animales. En 1887, Bruce fue el primero en describir la *Brucella melitensis* como una enfermedad causante de la muerte y de la morbilidad del personal militar por ingestión de productos lácteos procedentes de caprinos de las islas de Malta. Además, la *B. melitensis* es un patógeno de los ovinos, pero también puede encontrarse en los bovinos y tal vez sea la causa más corriente de brucelosis en el hombre. Diez años más tarde, Bang describió una bacteria similar, la *B. abortus*, que provocaba abortos masivos en los bovinos. Aunque la *B. abortus* también afecta al hombre, raramente se ha aislado en otras especies. Desde entonces se han ido descubriendo otras bacterias, entre las que cabe mencionar a la *B. suis* que infecta principalmente a los porcinos y a los animales salvajes, pero también a rumiantes domésticos y al hombre; la *B. neotoma* fue aislada en la rata silvestre del desierto; recientemente se ha aislado la *B. maris* en varias especies de mamíferos marinos aunque se ignora si es patógena para el hombre. Por otra parte, la *Brucella* también tiene dos especies rugosas que no poseen la parte de polisacárido-O de la molécula de lipopolisacárido situada en la pared externa de la célula. La *B. ovis* es un patógeno de los ovinos y la *B. canis* ataca a la raza canina. Hasta ahora se han descrito muy pocos casos de infección fatal de *Brucella* sp. en el hombre (Nielsen,2000).

3.2 Etiología:

En las ovejas y cabras, la causa principal de la brucelosis es *Brucella melitensis*, un cocobacilo o bacilo corto Gram negativo. Este microorganismo es un patógeno intracelular facultativo. *B. melitensis* posee tres biovariedades (1, 2 y 3). Las tres biovariedades causan enfermedades en los pequeños rumiantes, pero su distribución geográfica varía. Ocasionalmente, se producen infecciones por *Brucella abortus* y *Brucella suis* en pequeños rumiantes, pero la enfermedad clínica parece ser poco frecuente (CFSPH,2013).

Las pruebas genéticas e inmunológicas indican que todos los miembros del género *Brucella* están estrechamente relacionados, y algunos microbiólogos han propuesto la reclasificación del género en una especie única (*B. melitensis*), que contenga varios serotipos. Esta propuesta causa controversia, y en la actualidad se utilizan ambos sistemas taxonómicos (CFSPH,2013).

B.ovis, al igual que las otras brucellas, entra al organismo a través de las membranas mucosas. Sin embargo, no está completamente claro cuál sería la principal ruta de entrada en condiciones naturales. Una vez atravesada la mucosa y siguiendo el curso de los linfáticos aferentes, la bacteria llega a los ganglios linfáticos regionales. De allí y vía sanguínea la bacteria invade todo el organismo infectando el tracto genital, hígado, bazo, pulmones, riñón y otros ganglios linfáticos. Ya hacia el final del segundo mes post exposición, *B.ovis* desaparece de ganglios linfáticos y otros órganos encontrándose únicamente en epidídimos, vesículas seminales, glándulas bulbouretrales, ampollas de los conductos deferentes y a veces en riñón (Robles, 1998).

La presencia de *B.ovis* es universal y su distribución varía de acuerdo a diferentes factores; Como la región, la raza, la edad, el sexo, etc. La infección por *B.ovis* ha sido registrada en la mayoría de aquellos países en donde la cría de ovinos es una actividad económica importante. Si bien hay algunos países que han controlado y erradicado la enfermedad, de muchos otros no hay información disponible (Robles, 1998).

3.3 Características descriptivas:

El género *Brucella* está formado por un coco-bacilo corto, delgado, inmóvil, no forman esporas y son gram negativos. Su genoma está constituido por dos cromosomas circulares y carece de plásmidos. Tienen un metabolismo oxidativo, basado en la utilización de nitratos como aceptores de electrones. Son catalasa y oxidasa positivos, no atacan la gelatina ni modifican la leche y en general no fermentan los azúcares (Ríos, 2006).

Brucella puede presentarse de forma cocoide, cocobacilar o en forma de un pequeño bacilo ligeramente curvado de 0,6 a 1,5 μm de largo y entre 0,5 a 0,7 μm de ancho. Normalmente aparecen aisladas, aunque de forma poco frecuente se pueden encontrar en pares o en pequeños grupos (Coelho, García y Coelho, 2014).

3.4 Sinónimos:

- **Infección en humanos:** Fiebre de malta, Fiebre ondulante, fiebre del mediterráneo, fiebre gástrica (Ríos, 2006).
- **Infección en animales:** Enfermedad de Bang, Aborto contagioso, Aborto epizootico, Aborto enzoótico, Aborto infeccioso (Ríos, 2006).

3.5 Distribución geográfica:

La brucelosis se encuentra en todo el mundo, pero está controlada en la mayoría de los países desarrollados. La enfermedad clínica todavía es común en el Medio Oriente, Asia, África, América Central y del Sur, Cuenca Mediterránea y el Caribe. Las especies de *Brucella* varían en su distribución geográfica. *B. abortus* se encuentra en todo el mundo, en las regiones ganaderas con excepción de Japón, Canadá, algunos países europeos, Australia, Nueva Zelanda e Israel, donde ha sido erradicada. La erradicación de los rodeos domésticos es casi completa en EE. UU. *B. abortus* permanece en huéspedes de la fauna silvestre en algunas regiones, como el Área Mayor de Yellowstone de América del Norte. *B. melitensis* es particularmente común en el Mediterráneo, además se presenta en el medio Oriente y Asia Central, alrededor del Golfo Pérsico (también conocido como Golfo Árabe) y en algunos países de América Central. Se ha informado la presencia de este organismo en África e India, aunque no parece ser endémico en el norte de Europa, América del Norte (excepto México), sureste de Asia, Australia o Nueva Zelanda. *B. ovis* probablemente se presenta en la mayoría de las regiones de cría de ovejas del mundo; también se ha informada en Australia, Nueva Zelanda, América del Norte y del Sur, Sudáfrica y muchos países de Europa (CFSPH,2013).

3.6 Especies susceptibles:

El género *Brucella* infecta a las siguientes especies: bovinos, ovinos, caprinos, suínos, caballos, mula, perros, gatos, conejos, alces, búfalos, venados, corzos, renos, llamas, jabalís, cabras montesas, zorros, hurones, gacelas, liebres, ratones, hámsters, osos, lobos, caribús y un gran número de aves como perdices, codornices y especies migratorias. *Brucella melitensis* puede afectar a la mayoría de los animales domésticos, aunque los ovinos y los caprinos, especialmente los de explotaciones lecheras, son los más susceptibles (García y Coelho, 2014).

3.7 Reservorios:

Los reservorios naturales de *B. abortus* y *B. melitensis* es el ganado vacuno, porcinos, caprinos y ovino. El riesgo de transmisión de estos microorganismos está determinado por el número de abortos que ocurren, la presencia y sobrevivencia de bacteria en los tejidos infectados y en la exposición de un hospedero susceptible (Ríos, 2006).

3.8 Huésped y parásito:

Brucella melitensis es la especie más virulenta del género *Brucella*; de sus tres biovariedades, la 1 y la 3 son las aisladas con mayor frecuencia en pequeños rumiantes en el Mediterráneo, en los países de Oriente Medio y en América Latina. La brucelosis constituye una barrera para el comercio de animales, sus productos y causa importantes pérdidas debidas a abortos, además de suponer un grave problema de zoonosis (OIE, 2018).

Las cabras son el hospedador clásico y natural de *B. melitensis* y, junto con el ganado ovino, son los hospedadores preferentes. Desde los puntos de vista de la patología y la epidemiología, la infección por *B. melitensis* de los pequeños rumiantes es similar a la infección por *B. abortus* del ganado bovino; los principales signos clínicos de la brucelosis en rumiantes son el aborto y los mortinatos, que normalmente tienen lugar en el último tercio de la gestación posterior a la infección y por lo general una sola vez en la vida. Los animales sanos pueden exponerse de varias formas a la infección por brucelas, ya que está en los líquidos del parto o en el feto, así como en la placenta y en las secreciones del aborto de las hembras infectadas habrá una gran cantidad de bacterias capaces de sobrevivir varios meses en el medio externo, especialmente en condiciones de frío y humedad, y seguirán siendo infecciosas para otros animales, los cuales se contagiarán principalmente al ingerirlas. Las brucelas también colonizan las ubres y contaminan la leche. Aunque en las gestaciones posteriores al primer aborto las hembras paren “normalmente”, estas siguen excretando gran cantidad de bacterias al medio ambiente (OIE,2018).

Como sucede en la infección de vacas por *B. abortus*, *B. melitensis* puede transmitirse congénitamente in utero, pero solo una pequeña proporción de los corderos y los cabritos resultarán infectados en el útero, de tal modo que la mayoría de las infecciones latentes por *B. melitensis* probablemente se contraerán a través del calostro o la leche. A pesar de la baja frecuencia de transmisión, la existencia de tales infecciones latentes aumenta la dificultad de erradicar esta enfermedad, ya que como las bacterias persisten sin inducir respuesta inmunitaria detectable, los animales que las padecen son portadores silentes de la enfermedad. Por lo tanto, al llevar a cabo programas de erradicación en rebaños infectados se recomienda eliminar las hembras infectadas y su descendencia. Se desconoce cuál es el mecanismo exacto que permite el desarrollo de infecciones latentes por *Brucella* (OIE, 2018).

3.9 Transmisión:

Generalmente, la transmisión de la brucelosis ocurre en los rumiantes a través de la excreción de los materiales contaminados del aparato genital femenino, constituyendo la principal forma de transmisión a otros animales y al hombre. De esta forma, en la mayoría de las circunstancias, las principales vías de diseminación de la *Brucella* son la placenta, líquidos fetales, descargas vaginales expelidas después del parto o aborto, siendo en ese momento donde son liberadas un gran número de brucelas (Coelho, García y Coelho, 2014).

El contacto directo del humano con placentas, fetos, líquidos fetales y fluidos vaginales de animales infectados son la fuente primaria de contagio. Así como también por ingestión de alimentos provenientes de los mismos, como: carne, leche, lácteos en general contaminados. Las ovejas siguen eliminando al microorganismo por sus fluidos vaginales durante tres semanas después del parto o aborto (GIL, 2011).

Esto quiere decir que, los animales se pueden contagiar tanto por vía horizontal, como vertical. Sirve de puerta de entrada el sistema digestivo, la membrana mucosa orofaríngea, el tracto respiratorio, la conjuntiva, heridas en la piel y la inseminación artificial (Gil, 2011).

3.10 Enfermedad en los animales:

- Patogenia:

Una vez que los microorganismos ingresan al organismo, estos son fagocitados por células del sistema inmunitario. No todas las bacterias sobreviven, pero si no son destruidas se multiplican en el retículo endoplásmico. Luego, se diseminan por vía hemática, presentando predilección por el aparato reproductor

del animal y las glándulas mamarias. Se multiplican abundantemente en los cotiledones y el corión placentarios, así como en los líquidos fetales, causando lesiones en la pared del órgano. Lo cual, provoca una endometriosis ulcerosa en los espacios inter cotiledonarios y destrucción de las vellosidades que causan la muerte y expulsión del feto (Gil, 2011).

- Manifestaciones clínicas:

La infección con *Brucella melitensis* en cabras y ovejas no gestantes puede cursar de forma asintomática. En hembras preñadas produce abortos, muertes fetales, partos prematuros y crías débiles (Gil, 2011).

En los machos puede producir epididimitis, orquitis aguda y prostatitis que pueden llevar a la infertilidad del animal. También se puede observar, aunque de forma infrecuente, artritis en ambos sexos (Gil, 2011).

3.11 Enfermedad en los humanos:

La brucelosis presenta dos patrones epidemiológicos en humanos, uno es el patrón urbano alimentario, por consumo de leche cruda y quesos frescos (*B. melitensis*), y el patrón rural-laboral, por exposición profesional al ganado infectado o sus productos bien sea por contacto o inhalación (*B. abortus* y *B. suis*) (Ríos, 2006).

- Patogenia:

Los microorganismos entran por la vía digestiva, por piel o mucosas, allí son fagocitados, siendo capaces de sobrevivir dentro de la célula, inactivando el sistema de mieloperoxidasa-peróxido. Son transportados a los ganglios linfáticos y se produce una bacteriemia. Posteriormente hay secuestro de los microorganismos en diversos órganos del sistema reticuloendotelial y al degenerar el sistema polimorfo nuclear (PMN), libera al microorganismo, que es luego endocitado por otra célula y este ciclo se vuelve a repetir un y otra vez, explicando los episodios de fiebre ondulante en humanos (Gil, 2011).

- Manifestaciones clínicas:

La brucelosis humana presenta manifestaciones clínicas muy polimorfas, siendo muchas de ellas asintomáticas. La brucelosis aguda típica se manifiesta como una enfermedad febril de inicio agudo, con sudoración profusa, desproporcionada a la fiebre existente y de predominio nocturno, con algias de localización articular (sin artritis), musculares o neurológicas. La fiebre, sudoración y las algias constituyen la tríada clásica de la brucelosis aguda. En el curso de la evolución pueden presentarse síntomas focales (orquiepididimitis, sacroileítis y espondilitis, e incluso bursitis y tenosinovitis). Otras focalizaciones pueden ser la aparición de granulomatosis hepática y la neumopatía brucelar. La afección del sistema nervioso central y la endocarditis son las complicaciones más graves de la enfermedad (Montes, 2018).

La aparición de los síntomas puede ser insidiosa o abrupta. Los síntomas inespecíficos son fiebre ondulante, sudoración nocturna, escalofríos y malestar general, cefalea severa, mialgias y artralgias (Gil, 2011).

Estos síntomas pueden estar acompañados de linfadenopatías, esplenomegalia y hepatomegalia. Algunas veces pueden manifestarse lesiones cutáneas similares al eritema nudoso y erupciones maculopapulares o papulonodulares (Gil, 2011).

Entre las complicaciones más severas que pudieran presentarse se encuentran: fatiga crónica, endocarditis, trombosis de los vasos sanguíneos, epidídimo-orquitis y nefritis. A nivel neurológico: meningitis, hemorragias cerebrales, encefalitis, uveítis y neuritis óptica (Gil, 2011).

3.12 Lesiones post- mortem:

En la necropsia se observan lesiones inflamatorias granulomatosas en el tracto reproductivo, la ubre, ganglios linfáticos supramamarios, articulaciones, membranas sinoviales y otros tejidos linfoides. Así mismo, se observa placentitis con edema, necrosis de los cotiledones, y un engrosado en el espacio intercotiledonario. El feto puede visualizarse de aspecto normal, autolisado o con manchas de sangre y exceso de líquido (Gil, 2011).

3.13 Diagnóstico:

Para confirmación del diagnóstico definitivo es necesario realizar exámenes de laboratorio para el aislamiento de la bacteria. Los líquidos a examinar cuando existe un problema de aborto sospechoso a brucelosis en los animales vivos son: Sangre, leche, semen, secreciones vaginales y uterinas en hembras que recientemente han abortado. Los tejidos que se examinan son los ganglios linfáticos supramamarios, retrofaríngeos, ilíacos internos, lumbares y mesentéricos. El bazo, el hígado útero y placenta, membranas fetales y líquidos fetales y el contenido abomasal del feto (Ríos, 2006).

Las pruebas serológicas indican las titulaciones de anticuerpos específicos presentes en cada paciente.

Las pruebas más utilizadas son: las de aglutinación lenta en tubo, rápida en placa, prueba de la Tarjeta. Entre las pruebas complementarias están: 2-mercaptoetanol, fijación de complemento, Rivanol, Elisa y la del Anillo en la leche (Ríos, 2006).

Aglutinación:

En sus diferentes modalidades, es la prueba más utilizada debido a su rapidez y sensibilidad. El aumento significativo del título de anticuerpos es la base diagnóstica de la enfermedad (Montes, 2018).

- **Prueba de la Tarjeta o Rosa de Bengala**

Utiliza como antígeno en una suspensión bacteriana a la que se ha añadido un colorante, enfrentándolo al suero sin diluir del enfermo. Esta prueba es útil para el diagnóstico primario únicamente de ciertas especies (*B. abortus*, *B. melitensis* y *B. Suis*), la prueba de la tarjeta, proporciona una aproximación diagnóstica en pocos minutos con una sensibilidad (90%) y especificidad (99.5%) muy altas. Presenta elevado grado de correlación con la cero-aglutinación y por su simplicidad, es muy útil como prueba de pantalla o despistaje inicial. Sus falsos negativos se limitan a enfermos con procesos de pocos días de evolución y a algunos casos de enfermedad de curso muy prolongado (Montes, 2018).

Solo puede detectar la inmunoglobulina IgG, el antígeno se colorea con Rosa de Bengala a un pH de 3.65, destruyendo la actividad de las aglutininas no específicas y las IgM, sin afectar a las específicas IgG. Los resultados se leen como positivo (+), y negativo (-) (Ríos, 2006).

La modificación del antígeno consiste en reducir la concentración celular, esto es el número de células bacterianas con las que se prepara el mismo. El antígeno tradicional tiene una concentración celular del 8% y el modificado tiene un 3%, con esta modificación se consigue una mejor observación de la reacción antígeno-anticuerpo en los caprinos brucelosos (Ríos, 2006).

Para la realización de la PT se utiliza antígeno preparado con la cepa 1119-3 de *Brucella abortus*, la cual es útil para la detección de anticuerpos inducidos tanto por *B. abortus* como por *B. melitensis*, ya que estas especies bacterianas comparten antígenos de superficie. Sin embargo, éstos se encuentran en diferentes

concentraciones en las mencionadas bacterias, lo que hace que la sensibilidad y especificidad varíen (Díaz, 1999).

- **Seroaglutinación en tubo o placa con pocillos:**

Enfrenta diluciones crecientes del suero problema a una cantidad constante de *B. abortus*. Este antígeno reacciona tanto con anticuerpos de esa especie como frente a los de *B. melitensis* y *B. suis*, que son las tres especies responsables en la práctica de la totalidad de enfermos con brucelosis. El título positivo de 1/160 se considera, en un país endémico como España, el punto de corte en el diagnóstico de la enfermedad, no siendo raros los títulos de 1/640 o superiores en las fases iniciales de la enfermedad. Su interpretación requiere conocer los antecedentes del enfermo y valorar las características clínicas presentes puesto que, al inicio de la enfermedad o en casos muy avanzados de la misma, la prueba puede ser, como el Rosa de Bengala, negativa. Debido a que los anticuerpos responsables de la seroaglutinación son fundamentalmente de la clase IgM, lo habitual es que vayan descendiendo en el transcurso de 3-6 meses, con o sin curación de la enfermedad (Montes, 2018).

- **Prueba de Coombs:**

Es de gran interés para el diagnóstico de la brucelosis crónica. Se utiliza para demostrar la presencia de anticuerpos aglutinantes y no aglutinantes, fundamentalmente IgG. El suero de Coombs (inmunoglobulina • humana) se encargaría de facilitar la aglutinación de los anticuerpos no aglutinantes del suero problema, fijados a la suspensión antigénica de *B. abortus*. El título obtenido es, por ello, como mínimo el de la aglutinación y generalmente es mucho más elevado,

tanto más cuanto mayor es el tiempo de evolución de la enfermedad. Pueden persistir en ocasiones de forma prolongada y con titulación elevada, incluso en pacientes con tratamiento adecuado y buena evolución clínica. Hay que citar como posibles falsos positivos las reacciones cruzadas con *Vibrio cholerae*, *Francisella tularensis* y *Yersinia enterocolitica* 09, patógenos raros en nuestro país (Montes, 2018).

- **Inmunofluorescencia indirecta y fijación de complemento:**

Presentan una mayor complejidad técnica sin aportar nada a los métodos anteriormente descritos, por lo que no suelen utilizarse (Montes, 2018).

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Materiales

4.1.1 Recursos humanos

- Estudiante investigador
- Dos asesores
- Alumnos de la Escuela Nacional Central de Agricultura
- Personal de laboratorio de Microbiología perteneciente a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

4.1.2 Recursos biológicos

- Muestra de sangre de las hembras seleccionadas del rebaño ovino, perteneciente a la Escuela Nacional Central de Agricultura en Bárcena, Villa Nueva.

4.1.3 Recursos de campo

- Sujetadores plásticos grandes
- Sujetadores plásticos pequeños
- Barniz de madera
- Marcador
- Lazo
- Tijera
- Tubos de ensayo estériles, sin anticoagulante
- Marcador permanente

- Gradilla para tubos
- Guantes de látex
- Agujas vacutainer
- Algodón
- Alcohol
- Botas de hule
- Filipina
- Hielera
- Hielo en gel
- Vehículo
- Libreta
- Lapicero
- Computadora

4.1.4 Recursos de laboratorio

- Antígeno de *Brucella abortus* cepa 1119-3
- Puntas plásticas para pipeta
- Micropipeta
- Muestra de Suero Sanguíneo
- Palillos de dientes
- Timer
- Placa de vidrio
- Cámara de Huddleson para lectura
- Guantes de látex
- Colorante Rosa de Bengala

4.1.5 Centros de referencia

- I. Escuela Nacional Central de Agricultura.
- II. Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

4.2 Metodología

4.2.1 Área de estudio

La Escuela Nacional Central de Agricultura está ubicada en Bárcena, Villanueva. Bárcena, es una comunidad que pertenece al municipio de Villa Nueva, departamento de Guatemala, Guatemala. Está asentada en el suroeste del Valle de La Virgen, a una distancia de 4 kilómetros del centro de la Cabecera Municipal de Villa Nueva y a 19 kilómetros del centro de la ciudad capital. Sus terrenos constituyen parte de la zona 3 del municipio de villanueva y colinda al este con la zonas 2 del municipio, al sur con el municipio de Amatitlán, y al oeste y norte con el departamento de Sacatepéquez (ENCA, 2018).

- **Población**

Villa Nueva actualmente tiene una población integrada por el 45% de hombres y el 55% de mujeres. 355, 901 forma el 100% de la población (Fuentes, 2003).

- **Organización**

El municipio cuenta con una villa como cabecera, y está distribuido en 17 villas, 70 colonias, 3 aldeas, 6 caseríos, 9 asentamientos, 2 parajes, 5 fincas, 3 granjas, 1 parcelamiento y una labor.

- **Clima**

Por su elevación sobre el nivel del mar (1440 metros), Bárcena goza de un clima subtropical de tierras altas. El clima es generalmente suave y primaveral a lo largo del año. La temporada de lluvias se extiende de mayo a octubre, mientras que la estación seca abarca el resto del año. Para los meses fríos entre noviembre y febrero las temperaturas mínimas pueden llegar hasta los 3 °C y las máximas no sobrepasar los 20°C, siendo -3°C la temperatura más baja registrada históricamente y 33°C la máxima. La humedad relativa a media mañana es del 84% y por la noche del 64%. El Promedio de punto de rocío es de 12°C (Weather, 2018).

- **Precipitación**

Un día mojado es un día con por lo menos 1 milímetro de líquido o precipitación equivalente a líquido. La temporada más mojada dura 5,4 meses, de 13 de mayo a 25 de octubre. La temporada más seca dura 6,6 meses, del 25 de octubre al 13 de mayo. La mayoría de la lluvia cae durante los 31 días centrados alrededor del 20 de junio, con una acumulación total promedio de 166 milímetros (Weather, 2018).

- **Flora y fauna**

Llama del bosque, pino, ciprés, encino, guayaba, ceiba, matilisguate y otras, en el área existen algunas especies de fauna tales como la rata común, ardillas, conejos, mapaches, tacuazines, cotuzas y la mayoría de la fauna doméstica (Fuentes, 2003).

- **Uso potencial del suelo**

La mayor potencialidad del suelo en el municipio de Villa Nueva es un indicativo de la producción agrícola y forestal. Los centros poblados, la agricultura y los bosques forestales determinan en gran parte el uso actual del suelo (Fuentes, 2003).

4.2.3 Diseño del estudio

Diseño descriptivo de corte transversal.

4.2.4 Población del estudio

La Escuela Nacional Central de Agricultura cuenta con un rebaño ovino de carácter extensivo, posee un total de 55 animales. El rebaño se divide de la siguiente manera: 25 hembras en edad reproductiva, 18 crías, 7 machos elastrados y 5 machos enteros. Se maneja las razas: Kathadin, Black belly y pelibuey; Actualmente, existe el cruce frecuente entre las razas. Por lo tanto, muchas se categorizan como animales “sin raza definida”. En cuanto al manejo de estos animales actualmente, no se posee ningún tipo de registro, los animales no están

identificados y no poseen plan profiláctico. Actualmente, las hembras reproductoras del rebaño presentan trastornos reproductivos como lo son: abortos, mortinatos, crías débiles, fetos autolisados, fetos con manchas de sangre, entre otros. Durante el estudio se muestreó 25 animales. Es decir, la totalidad de hembras pertenecientes al rebaño.

4.2.5 Procedimiento de campo

- Se identificó el 100% de la población ovina (tanto machos, como hembras, adultos y crías) mediante, números correlativos. Haciendo uso de sujetadores plásticos grandes como collares y haciendo uso de botellas recicladas para realizar los cuadros numerados con marcador permanente de color negro. Encadenados por medio de sujetadores pequeños y barnizados posteriormente.
- Se creó una base de datos o registro que fue entregada al administrador de la ENCA, al finalizar el estudio. En donde se tomó en cuenta datos como: raza, sexo, edad promedio y peso de todo el rebaño.
- Se procedió a realizar la toma de muestra sanguínea, puncionando la vena yugular únicamente de los animales seleccionados para el estudio. Haciendo uso de tubos estériles sin anticoagulante, capuchón y agujas vacutainer.
- Posteriormente, se identificaron adecuadamente las muestras, y fueron transportadas por medio de una hielera, con hielo al Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia en donde fueron procesadas. Se llevó a cabo la prueba Card-Test, utilizando el antígeno de *Brucella abortus*, cepa 1119 – 3 y el colorante Rosa de Bengala.
- Para finalizar, se llevó a cabo el análisis de los resultados obtenidos.

4.2.6 Análisis de laboratorio

Este análisis se llevó a cabo en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria. Se realizó la prueba Card-Test, haciendo uso del antígeno *Brucella abortus*, con la cepa 1119 – 3 y el colorante Rosa de Bengala.

4.2.7 Análisis estadístico

Se tabularon todos los datos obtenidos. Se realizó el cálculo de porcentajes y se llevó a cabo la elaboración de gráfica de barras para presentar los resultados obtenidos durante el estudio. No se realizó ningún tipo de análisis estadístico, ya que el estudio es de carácter descriptivo.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para realizar el estudio se muestrearon 25 ovejas en edad reproductiva. Es decir, la totalidad de hembras del rebaño. El estudio se realizó con la finalidad de detectar anticuerpos contra la enfermedad de Brucelosis. El 100% de las muestras fueron negativas a la prueba serológica Card-Test o Prueba de la Tarjeta. Es importante mencionar que, la prueba es útil únicamente para detección de anticuerpos contra *B. suis*, *B. abortus* y *B. melitensis*.

En Centro América se reportan casos de Brucelosis tanto en seres humanos, como en animales de distintas especies. *Brucella abortus* es la más común en nuestro medio. Existe la posibilidad de contaminación cruzada entre especies (Ríos, 2006).

Para realizar la prueba se utilizó el colorante Rosa de Bengala y el antígeno *Brucella abortus* cepa 1119-3. La prueba serológica posee una sensibilidad del 90% y una especificidad del 99.5%. Es una prueba tamiz o de pantalla, totalmente confiable (Montes, 2018).

Al obtener el 100% de las muestras negativas, se concluye que el rebaño ovino de la Escuela Nacional Central de Agricultura, no presenta anticuerpos contra la enfermedad. La sintomatología mencionada con anterioridad, no tiene relación a la infección por Brucelosis.

Al descartar la presencia de *Brucella* sp, es importante mencionar que los problemas de reproducción en animales pueden ser de un origen muy diverso, ya que además de existir deficiencias sanitarias, pueden existir deficiencias genéticas, nutricionales o cuestiones de manejo de los animales.

VI. CONCLUSIÓN

- No existe presencia de anticuerpos contra *Brucella sp*, en las ovejas muestreadas en la Escuela Nacional Central de Agricultura. El 100% de la población ovina muestreada, es negativa a la prueba serológica Card- Test para diagnóstico de Brucelosis.

VII. RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar pruebas diagnósticas anuales, contra enfermedades reproductivas en las ovejas de la Escuela Nacional Central de Agricultura. Como lo es el aislamiento bacteriano, seroaglutinación en tubo y fijación del complemento.
- Todos los animales sin importar su procedencia, deben cumplir con la normativa nacional para garantizar el estatus sanitario del rebaño.
- Se sugiere obtener previamente el registro sanitario completo de animales de nuevo ingreso al rebaño, para crear un mejor control y manejo de los animales pertenecientes a la Escuela Nacional Central de Agricultura.

VIII. RESUMEN

El presente estudio se realizó, con la finalidad diagnosticar anticuerpos contra el agente etiológico *Brucella* sp, haciendo uso de la prueba serológica Card-Test. El estudio se llevó a cabo en un grupo de 25 ovejas con historial de trastornos reproductivos y sin ningún tipo de plan profiláctico preventivo. El rebaño de ovejas utilizado para llevar a cabo el estudio, pertenecen a la Escuela Nacional Central de Agricultura, ubicada en Bárcena, Villanueva.

Las muestras obtenidas fueron analizadas en el Laboratorio de Microbiología de la FMVZ, USAC. Haciendo uso del antígeno *Brucella abortus*, cepa 1119-3 y el colorante Rosa de Bengala. El 100% de las muestras procesadas dieron un resultado negativo a la presencia de anticuerpos contra *Brucella* sp. Por lo tanto, se descartó que el agente etiológico *Brucella* sp sea el causante primario de los trastornos reproductivos en la Escuela Nacional Central de Agricultura.

La prueba serológica utilizada posee una sensibilidad del 90% y una especificidad del 99.5%, lo que la convierte inmediatamente en una prueba confiable. Por lo tanto, la probabilidad de encontrar animales falsos negativos o falsos positivos es baja, casi nula; Esto debido a que la prueba es altamente sensible y altamente específica.

No se logró establecer que existiera alguna relación entre la presencia de anticuerpos contra Brucelosis y la aparición de trastornos reproductivos en las ovejas muestreadas del rebaño perteneciente a la ENCA. Sin embargo, es importante mencionar que los problemas reproductivos pueden ser de un origen bastante diverso como problemas nutricionales, traumas, genéticos, entre otros.

SUMMARY

The present study was conducted, in order to diagnose antibodies against the etiological agent *Brucella* sp, using the Serological Test Card-Test. The study was conducted on a group of 25 sheep with a history of reproductive disorders and without any kind of preventive prophylactic plan. The flock of sheep used to carry out the study, belong to Escuela Nacional Central de Agricultura, located in Bárcena, Villanueva.

The samples obtained were analyzed at the Microbiology Laboratory of the FMVZ, USAC; using *Brucella abortus* antigen, strain 1119-3 and the Pink Bengal dye. 100% of the processed samples gave a negative result to the presence of antibodies against *Brucella* sp. Therefore, it was ruled out that the etiological agent *Brucella* sp is the primary cause of reproductive disorders at Escuela Nacional Central de Agricultura.

The serological test used has a sensitivity of 90% and a specificity of 99.5%, which immediately makes it a reliable test. Therefore, the probability of finding false negative animals or false positives is low, almost zero; This is because the test is highly sensitive and highly specific.

It was not possible to establish that there was any link between the presence of antibodies against Brucellosis and the appearance of reproductive disorders in the sampled sheep of the herd belonging to the ENCA. However, it is important to mention that reproductive problems can be of a fairly different origin such as nutritional problems, traumas, genetics, among others.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Coelho A., García J., y Coelho A. (2014). “Brucelosis en pequeños rumiantes”. REDVET. *Revista electrónica Veterinaria* 15(5), 1-31.

Díaz E. (1999). “Prueba de la tarjeta modificada para el diagnóstico de la brucelosis caprina.” Recuperado de <http://www.medigraphic.com/pdfs/vetmex/vm-1999/vm994f.pdf>

Escuela Nacional Central de Agricultura – ENCA., (2018). “Historia de la Escuela Nacional Central de Agricultura.” Recuperado de <http://www.enca.edu.gt/enca2/index.php/conocenos/historia/>

Fuentes J. (2003). “Situación actual del agua en el municipio de villa nueva y diseño de la red de distribución para la colonia marianita.” Recuperado de http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/08/08_2314_C.pdf

Gil M. (2011). “Brucella melitensis: características, morfología, transmisión, patologías” Recuperado de <https://www.lifeder.com/brucella-melitensis/>

Montes I.,- Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. (2018). “Diagnóstico de la Brucelosis”. Recuperado de <https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/serologia/diagbruce.pdf>

Nielsen K. (2000). "Brucelosis en las américas: perspectivas de diagnóstico y de control mediante la utilización de nuevas vacunas" Recuperado de <file:///C:/Users/HP14BS023LA/Desktop/TESIS/Tesis%20ovinos.PDF>

Organización Mundial de Sanidad Animal – OIE. (2018). "Epidemiología de la brucelosis causada por *Brucella melitensis*, *Brucella suis* y *Brucella abortus* en animales domésticos." Recuperado de <https://www.oie.int/doc/ged/D12404.PDF>

Ríos E., (2006). "*Determinación de anticuerpos contra Brucella sp*". Tesis pregrado. Universidad San Carlos de Guatemala, Guatemala. <file:///C:/Users/HP14BS023LA/Desktop/TESIS/Tesis%20Med%20Vet%20Edgar%20Vinicio%20Rios%20G.pdf>

Rivers R, (2006). "Brucella abortus: immunity, vaccines and prevention strategies base don nucleic acids" Recuperado de https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301-732X2006000100002

Robles C., (1998). "Epididimitis contagiosa de los carneros". Revista de Medicina IDIA Veterinaria 4(7), 83-86.

The Center Food Security and Public Health – CFSPH. (2013). "Brucelosis ovina y caprina." Recuperado de http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/brucella_melitensis-es.pdf

Weather Spark – Previsión Meteorológica. (2018). “Clima promedio en Villa Nueva.” Recuperado de <https://es.weatherspark.com/y/11622/Clima-promedio-en-Villa-Nueva-Guatemala-durante-todo-el-a%C3%B1o>

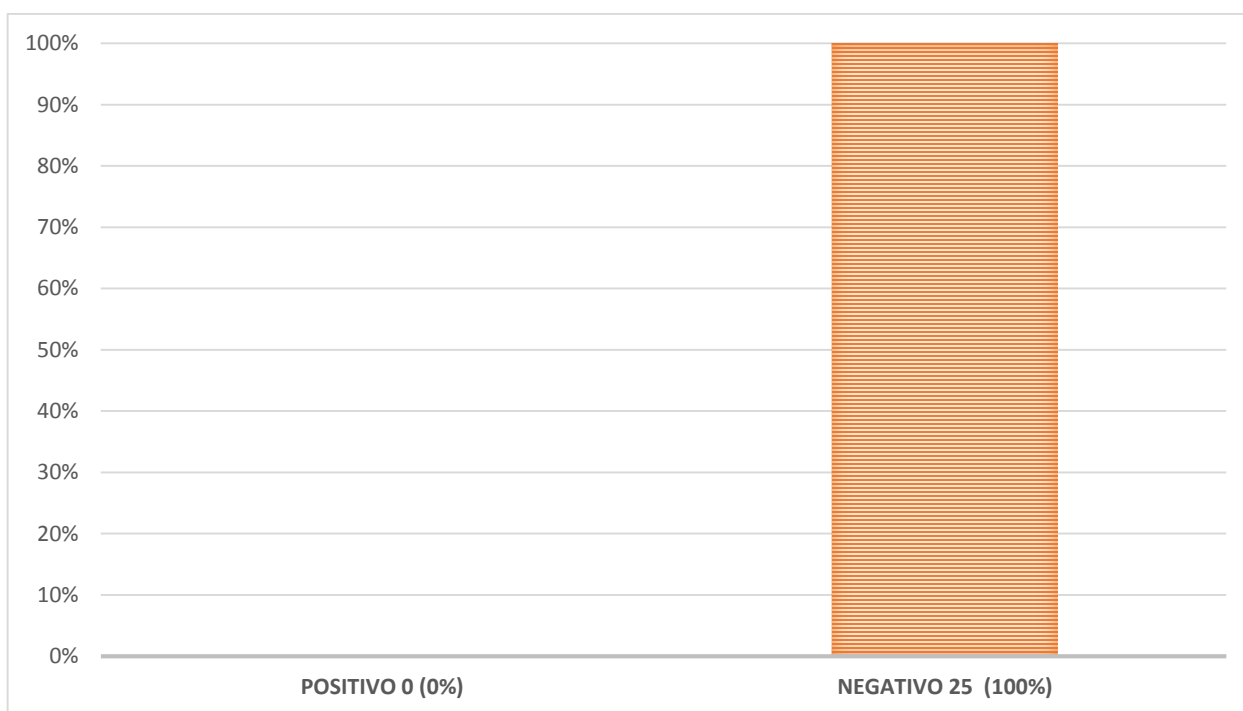
X. ANEXOS

ANEXO 1. Resultados obtenidos de las muestras evaluadas por medio de la Prueba Serológica Card-Test, a la presencia de anticuerpos contra *Brucella* sp. en rebaño ovino perteneciente a la Escuela Nacional Central de Agricultura.

| POSITIVAS | NEGATIVAS |
|-----------|-----------|
| 0 (0%) | 25 (100%) |

Fuente: Elaboración propia.

ANEXO 2. Diagnóstico de anticuerpos contra *Brucella* sp. mediante la prueba serológica Card – Test, en 25 muestras de suero, del rebaño ovino perteneciente a la Escuela Nacional Central de Agricultura.



Fuente: Elaboración propia.